

## Estudio comparativo de hueso craneal generado en un modelo experimental de osteogénesis en conejos

Dra. Ana Luisa Sesman-Bernal,<sup>1</sup> Dr. Raúl Barceló-de la Isla,<sup>2</sup> Dr. Arturo Herrera-Rosas,<sup>3</sup> Dr. José Ismael Espejo-Plascencia,<sup>4</sup> Dra. Leticia Avila-Figueroa,<sup>5</sup> Dra. María Cristina Velasquillo-Martínez,<sup>6</sup> \* Dr. José Antonio León-Pérez<sup>7</sup> \*

### RESUMEN

**Antecedentes:** Existe un continuo interés en el desarrollo de materiales sustitutos de injertos óseos para la reparación de defectos craneales de espesor total, especialmente para la corrección de defectos congénitos y postraumáticos, en los cuales la principal limitante del injerto autólogo radica en la cobertura del defecto craneal. Por tal motivo buscamos desarrollar una unidad osteogénica (hueso desmineralizado, células de médula ósea y dermis humana acelular) donde se verifiquen simultáneamente la osteoconducción, la osteoinducción y la osteogénesis (mecanismos normales para la formación de hueso) para la reparación biológica de dichos defectos.

**Material y Método:** Se realizó una craneotomía en 15 conejos adultos, de 100 mm<sup>2</sup> (10 x 10 mm) efectuadas mediante un taladro oscilante, evitando lesionar la duramadre o el cerebro. Se implantó la unidad osteogénica en el sitio de la lesión experimental. De esta forma se formó un andamio de dermis humana acelular en el sitio del defecto en contacto con la duramadre; luego se implantaron el hueso desmineralizado y la médula ósea autóloga.

**Resultados:** Los animales se dividieron de manera aleatoria en cuatro grupos. Con microscopia de luz se compararon las variables histológicas entre los diferentes grupos. Hubo una diferencia significativa en la proporción del tejido osteoide ( $p < 0.05$ ), de trabéculas inmaduras ( $p < 0.05$ ) y de la cantidad de osteoblastos ( $p < 0.05$ ). Estas variables mostraron un aumento en los animales sacrificados al segundo mes del estudio, que disminuyó en los animales sacrificados al sexto mes.

**Conclusiones:** El modelo experimental osteogénico implantado obtuvo los tres factores de reconstrucción biológica: osteoinducción, osteoconducción y osteogénesis.

La unidad osteogénica implantada en el presente estudio es factible.

**Palabras clave:** Injertos óseos, hueso craneal, defectos congénitos, osteoconducción, osteoinducción, osteogénesis.

### ABSTRACT

**Background:** There is a continuing interest in developing materials as substitutes for bone grafts to repair full-thickness cranial defects, especially for correction of birth and post-trauma defects, where the main limitation lies in autologous graft coverage of the bone defects. There were intend to develop a unit where simultaneously verify the osteoconduction, the osteoinduction and osteogenesis for the repair of such defects.

**Methods:** We performed a craniotomy to 100 mm<sup>2</sup> (10 x 10 mm) by means of an oscillating drill, taking care not to damage the dura or the brain. The osteogenic unit was then applied on the experimental lesion, following the application of a scaffold of acellular human dermis on the defect in contact with the dura, finally demineralized bone and autologous bone marrow are placed.

**Results:** Light microscopy analysis of histological parameters were compared between groups and there was a significant difference in the proportion of osteoid tissue ( $p < 0.05$ ), immature trabecular ( $p < 0.05$ ) and number of osteoblasts ( $p < 0.05$ ). These variables showed an increase in animals killed at the second month of the study, while they decreased in animals slaughtered on the sixth postsurgical month.

**Conclusions:** The implanted experimental model fulfilled established the three osteogenic reconstruction biological factors: Osteinduction, osteoconduction and osteogenesis.

**Key words:** Bone grafts, cranial bone, congenital defects, osteoconduction, osteoinduction, osteogenesis.

### ESTUDIOS SOBRE INJERTOS ÓSEOS PARA RECONSTRUCCIÓN CRANEOFACIAL

El uso de injertos óseos autólogos para el restablecimiento quirúrgico de la forma y función del cráneo está bien documentada.<sup>18</sup> Sus objetivos primordiales son proteger el cerebro, restituir

contornos estéticos y evitar el colapso intraventricular. Sin embargo, los resultados a largo plazo de reconstrucciones craneales pueden verse comprometidos por la reabsorción de cantidades significativas del injerto óseo, con pérdidas de volumen que oscilan de 20 a 80%<sup>20, 21</sup>.

El prolapso de tejidos blandos adyacentes y una migración rápida de fibroblastos hacia el defecto óseo se

han señalado como obstáculos para la regeneración ósea. Debido a esto surgió el procedimiento de la “regeneración ósea dirigida”, utilizando diversas membranas diseñadas para que funcionen como barrera a fin de impedir que los tejidos blandos adyacentes y los fibroblastos penetren en el defecto; así se facilita la proliferación de células productoras de hueso <sup>22-28</sup>.

Una alternativa promisoriosa de los materiales para la reconstrucción de defectos craneales es la matriz ósea desmineralizada alogénica (DBM) <sup>29-34</sup>.

Después de implantar la DBM en el defecto óseo, las células mesenquimatosas pluripotenciales del sitio receptor comienzan a proliferar y transformarse en cartílago y ese cartílago forma hueso nuevo, cuando la matriz cartilaginosa se osifica y se reemplaza por tejido osteoide (hueso en formación). Dicho proceso se verifica por osificación endocondral y la invasión de vasos sanguíneos que es un fenómeno fundamental para la formación endocondral.

Por otro lado, la condromodulina I, una glicoproteína de 25 KDa aislada por vez primera de la epífisis de bovinos, es motivo de estudio ya que promueve la actividad de condrocitos, estimula la síntesis de proteoglicanos y la formación de colonias de condrocitos <sup>35</sup>.

Gendler introdujo la DBM perforada en 1984 y halló que cada sitio de perforación se convierte en un centro de neoformación. La DBM se ha distribuido para su uso comercial a partir de 1987, pero aún son relativamente pocos los estudios que evalúan la velocidad y el patrón de neoformación después de implantarla <sup>36</sup>.

Chen et al., evaluaron la eficacia de la DBM con pasta de hueso autólogo en la reconstrucción de defectos craneales de espesor total en diez pacientes, encontraron que es un material biocompatible con importante potencial osteoinductivo. Además observaron múltiples áreas de neoformación ósea y un llenado completo del defecto craneal a los dos años de haber implantado la DBM <sup>19,20</sup>.

En algunos estudios utilizaron con éxito dermis humana acelular para reconstruir defectos de la base de cráneo. Este material proporciona un andamio para el crecimiento de fibroblastos y neovascularización, como lo informó Eppley <sup>37,38</sup>.

## DIRECCIONES FUTURAS

### Ingeniería Tisular

Los avances en la ingeniería tisular y la integración de ciencias biológicas y físicas, están creando y desarrollando diversos materiales que conllevan factores de crecimiento, andamios biológicos, así como la incorporación de células madre mesenquimatosas. <sup>39, 40</sup>

## JUSTIFICACIÓN

Existe un continuo interés en el desarrollo de materiales sustitutos de injertos óseos para la reparación de defectos craneales de espesor total, especialmente para corrección de defectos congénitos y postraumáticos. La limitante principal del injerto autólogo es la poca cantidad que se puede obtener para cubrir un defecto óseo grande. De aquí que se justifique el desarrollo de una unidad osteogénica en donde se verifiquen de manera simultánea la osteoconducción, la osteoinducción y la osteogénesis para la reparación biológica de dichos defectos.

## HIPÓTESIS

El presente modelo experimental de osteogénesis en defectos craneales producidos en la calota de conejo adulto, reúne las propiedades de osteoinducción, osteoconducción

<sup>1</sup> Cirujano Plástico Pediatra. Médico Adscrito al servicio de Cirugía Plástica, Instituto Nacional de pediatría.

<sup>2</sup> Cirujano Plástico especialista en Cirugía Craneofacial. International Craniofacial Institute. Dallas Texas. USA.

<sup>3</sup> Cirujano General. Maestro en Ciencias Médicas. Especialista en Imagenología. Asociación Mexicana de Ultrasonido

<sup>4</sup> Médico Patólogo. Especialista en Oncopatología. Consejo Mexicano de Patología. Guadalajara Jalisco

<sup>5</sup> Médico Veterinario Zootecnista. Departamento de Medicina Veterinaria. Universidad de Guadalajara. Guadalajara Jalisco

<sup>6</sup> Coordinador de la Unidad de Ingeniería de Tejidos, Terapia celular y Medicina Regenerativa. Instituto Nacional de Rehabilitación. México DF.

<sup>7</sup> Cirujano Plástico. Subdirector de Cirugía. Titular del Curso de Cirugía Plástica Pediátrica. Instituto Nacional de Pediatría. México DF.

\* Los autores agradecen a la Dra. María Cristina Velasquillo-Martínez su participación en la metodología de los procedimientos de laboratorio y al Dr. José Antonio León-Pérez por las facilidades proporcionadas para la elaboración del estudio.

Correspondencia: Dra. Ana Luisa Sesman-Bernal. Instituto Nacional de Pediatría. Insurgentes Sur 3700-C Colonia Insurgentes Cuicuilco. Email: alsb2002@hotmail.com

Recibido: marzo, 2010. Aceptado: julio, 2010.

Este artículo debe citarse como: Sesman-Bernal AL, Barceló-de la Isla R, Herrera-Rosas A, Espejo-Plascencia JI y col. Estudio comparativo de hueso craneal generado en un modelo experimental de osteogénesis en conejos. Acta Pediatr Mex 2010;31(5):206-216.

[www.nietoeditores.com.mx](http://www.nietoeditores.com.mx)

y osteogénesis en dos unidades osteogénicas, la unidad A (hueso desmineralizado en placa, médula ósea y dermis humana acelular) la unidad B (hueso desmineralizado en pasta, médula ósea y dermis humana acelular).

## OBJETIVOS DEL ESTUDIO

### Objetivo general

Utilizar las propiedades osteoconductoras de la colágena de dermis humana acelular y adicionarle matriz ósea desmineralizada por su capacidad osteoinductiva y aspirado de médula ósea para el potencial osteogénico. En tal forma se pretende desarrollar una unidad osteogénica para la reparación completa de los defectos craneales de espesor total.

## MATERIAL Y MÉTODO

Quince conejos tipo New Zealand adultos se utilizaron en el presente estudio. Estuvieron al cuidado del Bioterio de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de Guadalajara. Cinco conejos tipo New Zealand adultos sirvieron de control.

El estudio se hizo en el Instituto Jalisco de Cirugía Plástica y Reconstructiva. Guadalajara Jalisco del 1 de abril de 2003 al 30 de octubre de 2004.

Se utilizaron como **unidades osteogénicas**, dermis humana acelular, matriz ósea desmineralizada en placa y pasta y aspirado de médula ósea.

### Procedimiento

Los 20 conejos se mantuvieron con riguroso control a una temperatura a 22° C y luminosidad constante de las 07:00 h a las 19:00 h. Todos fueron alimentados con la misma dieta comercial y agua ad libitum.

El protocolo experimental fue aprobado por el Comité de Bioética del Instituto, y se realizó con apego estricto a la norma: US Department of Health and Human Services: Guide of the Care and Use of Laboratory Animals. Asimismo, de acuerdo a los lineamientos y principios a los cuales se debe someter la investigación científica y tecnológica destinada a la salud. Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud (DOF 7 de febrero de 1984).

Todos los animales recibieron profilaxis con antibióticos (Cefotaxima 10 mg/Kg) antes de comenzar la anestesia

general, que fue inducida con Ketamina intramuscular a 50 mg/kg, acetilpromazina (0.75 mg/kg) y Xylazine (5 mg/kg); se mantuvieron con halotano (1.5%) y óxido nitroso en una mezcla de 50/50 vía mascarilla.

La cabeza y la cresta iliaca de los animales fueron rasuradas y preparadas con solución de yodo-povidona; adicionalmente, se aplicó por vía subcutánea lidocaína al 1% con epinefrina 1:100,000). Los animales se mantuvieron a una temperatura corporal constante de 37 a 38° C durante el procedimiento quirúrgico.

Se hizo una incisión a nivel de la cresta iliaca derecha del conejo con bisturí No. 15; se hizo disección por planos hasta la cresta iliaca; se realizó una punción con una aguja de Shiba de la cortical ósea hasta la cavidad endomedular hemoformadora; se extrajo la guía de la aguja y con una jeringa de aspiración, se obtuvieron unas gotas de líquido endomedular que se depositaron en una caja de Petri. Posteriormente se utilizaron en la preparación de dos unidades osteogénicas:

Unidad tipo A: hueso desmineralizado en bloque, médula ósea autóloga y dermis humana acelular (allderm).

Unidad tipo B: hueso desmineralizado en pasta, médula ósea autóloga y dermis humana acelular.

Se realizó una incisión mediosagital de la piel a lo largo de la superficie antero superior del cráneo; se incidió el periostio del hueso craneal en la línea media y se formaron dos colgajos; se disecaron y se elevaron bilateralmente. Posteriormente se realizaron dos craneotomías bilaterales parietales de 100 mm<sup>2</sup> (10 x 10 mm) con el uso de un taladro oscilante, teniendo la precaución de no lesionar la duramadre ni el cerebro (Figura 1).

Cada colgajo de la craneotomía se elevó a través de uno de sus lados con un osteotomo de 2 mm. En ambos defectos craneales se colocó dermis humana acelular (Figura 2).

Del lado derecho se colocó la unidad osteogénica tipo A (Figura 3) y del lado izquierdo la unidad osteogénica tipo B (Figura 4).

En ambas unidades se adicionó aspirado de médula ósea (Figura 5).

Una vez completas las unidades osteogénicas (Figura 6) se fijaron al hueso adyacente con puntos simples de nylon 5-0 y los colgajos de piel se suturaron con material no absorbible (nylon 5-0).

Los animales fueron divididos de manera aleatoria en cuatro grupos:



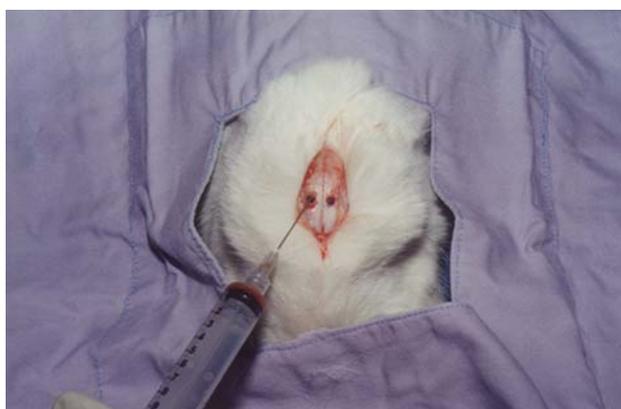
**Figura 1.** Defecto de tamaño crítico (100 mm<sup>2</sup>)



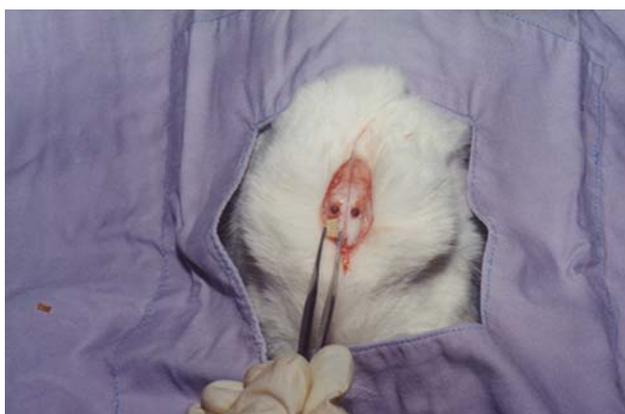
**Figura 4.** Colocación de hueso desmineralizado en pasta.



**Figura 2.** Colocación de dermis humana acelular



**Figura 5.** Colocación del aspirado de médula ósea



**Figura 3.** Colocación del hueso desmineralizado en bloque.



**Figura 6.** Unidad osteogénica completa.

Grupo I: cinco conejos como Grupo control, que se sacrificaron a los seis meses.

Grupo II: cinco conejos que fueron sacrificados al segundo mes.

Grupo III: cinco conejos que fueron sacrificados al cuarto mes.

Grupo IV: cinco conejos que fueron sacrificados al sexto mes.

Preparación de especímenes. Se sacrificaron los animales con una sobredosis de pentotal sódico; se hizo una osteotomía bilateral para obtener ambas unidades osteogénicas.

### Análisis de la información

Para comparar las variables histopatológicas entre los grupos II, III, y IV tanto para la unidad osteogénica A como para la unidad osteogénica B, se efectuó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis.

Posteriormente, se hizo una comparación intragrupo de las variables histopatológicas para ambas unidades osteogénicas mediante la prueba de Mann Whitney.

Adicionalmente, las variables histopatológicas se correlacionaron entre sí mediante análisis de correlación de Spearman para variables ordinales.

En los resultados de todos los análisis se consideró  $\alpha = 0.05$  como valor significativo.

Para los análisis señalados se utilizó el software SPSS versión 10 para Windows <sup>41</sup>.

## RESULTADOS

### Generales

No hubo defunciones ni complicaciones inherentes al acto quirúrgico; no ocurrieron infecciones, pérdida de colgajos, osteomielitis, reacción al material de sutura, ni rechazo de la unidad osteogénica.

### Histología cualitativa

Unidad A. Con microscopia de luz se compararon las variables histológicas entre los grupos II, III y IV, que se muestran en el cuadro 1, donde se ve que hubo una diferencia significativa en la proporción del tejido osteoide ( $p < 0.05$ ), de trabéculas inmaduras ( $p < 0.05$ ) y de la cantidad de osteoblastos ( $p < 0.05$ ). Estas variables mostraron aumento en los animales sacrificados al segundo mes del estudio y disminuyeron para los sacrificados al sexto mes. (Figura 7)

Unidad B. El cuadro 2 muestra los hallazgos histológicos de los grupos II, III y IV. Se observaron diferencias significativas en la cantidad de tejido osteoide ( $p < 0.05$ ), de trabéculas inmaduras ( $p < 0.05$ ) y de osteoblastos ( $p < 0.05$ ). Dichas variables presentaron una tendencia similar a la de la Unidad A.

En ambas unidades se vio un incremento en la proporción de trabéculas maduras, de la congestión vascular y

de la cantidad de osteocitos y fibrosis; sin embargo, no se demostró significancia estadística entre los grupos estudiados. (Figuras 8 a 11)

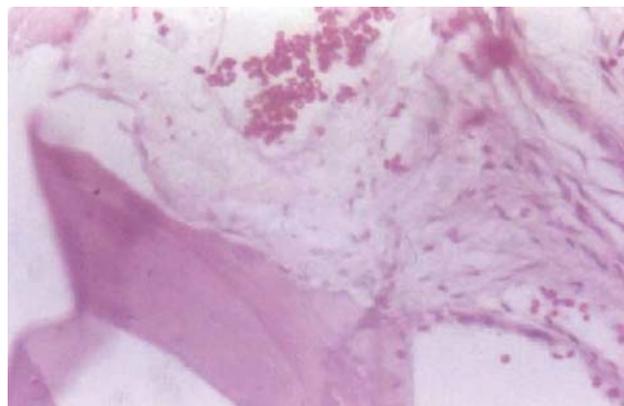


Figura 7. Presencia de trabécula ósea con abundante tejido osteoide.

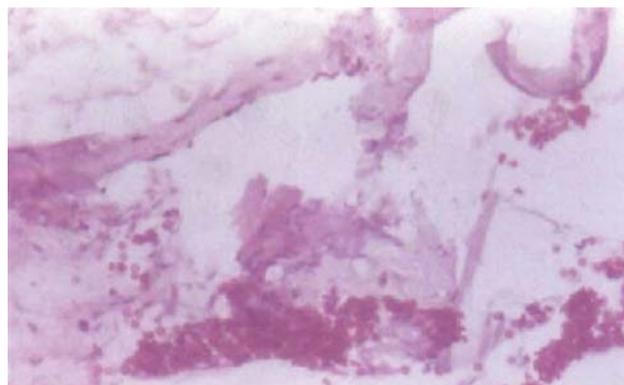


Figura 8. Tres trabéculas en diferente proceso de maduración, con congestión vascular y neof ormación.

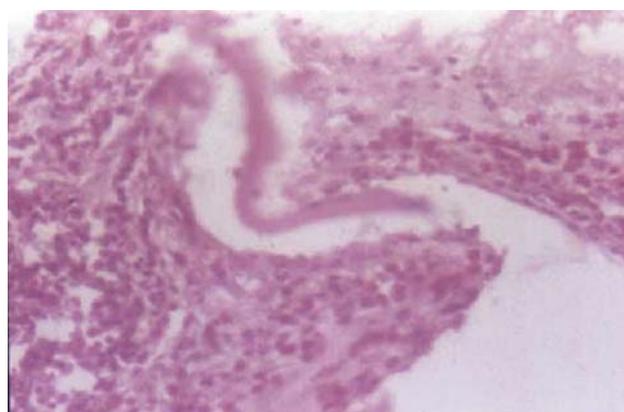


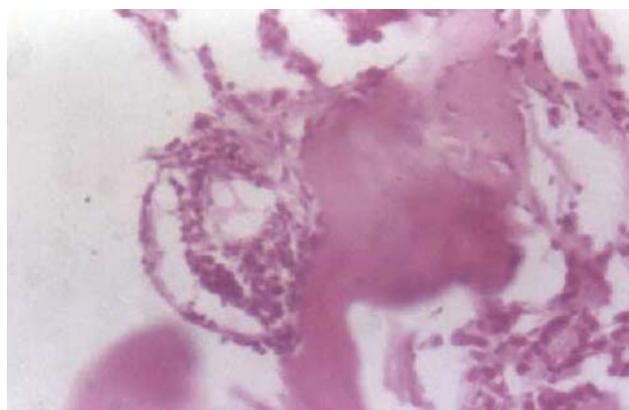
Figura 9. Trabécula ósea en proceso de maduración para cubrir el defecto óseo.

**Cuadro 1.** Comparación de las variables histopatológicas entre los grupos para la unidad osteogénica A

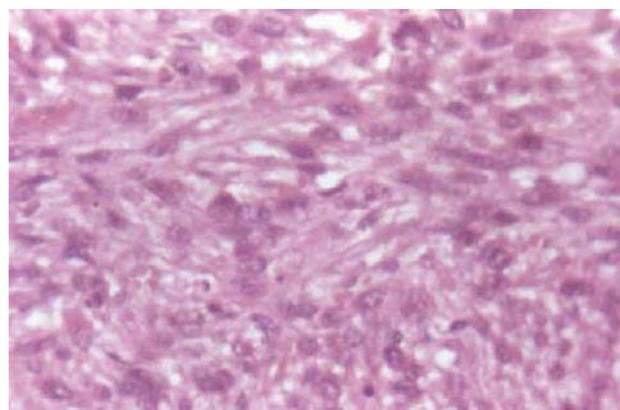
Variables	Grupo II		Grupo III		Grupo IV		Kruskal-Wallis	
	No.	%	No.	%	No.	%	Valor	p
Unidad A								
Edema	4	80	5	100	4	80	0.62	NS
Hemorragia	0	-	0	-	1	20	2.0	NS
Inflamación	3	60	2	40	1	20	2.1	NS
Osteoide	4	80	4	80	2	40	5.38	0.058
Trabéculas Inmaduras	4	80	4	80	0	-	8.32	0.016
Trab. Maduras	3	60	3	60	4	80	0.10	NS
Neoformación Vascular	4	80	3	60	3	60	0.51	NS
Congestión vascular	3	60	5	100	5	100	0.01	NS
Osteoblastos	4	80	1	20	0	-	10.0	0.007
Osteoclastos	0	-	0	-	0	-	0.0	NS
Osteocitos	0	-	2	40	3	60	3.64	NS
Fibrosis	2	40	1	20	4	80	5.67	NS
Reacción a cuerpo extraño	2	40	0	-	0	-	4.3	NS

**Cuadro 2.** Comparación de las variables histopatológicas entre los grupos para la unidad osteogénica B

Variables	Grupo II		Grupo III		Grupo IV		Kruskal-Wallis	
	No.	%	No.	%	No.	%	Valor	p
Unidad B								
Edema	5	100	5	100	4	80	0.543	NS
Hemorragia	0	-	0	-	0	-	2.4	NS
Inflamación	4	80	3	60	2	40	2.8	NS
Osteoide	4	80	3	60	2	40	6.8	0.05
Trabéculas Inmaduras	4	80	4	80	1	20	8.2	0.017
Trab. Maduras	3	60	3	60	4	80	0.20	NS
Neoformación Vascular	3	60	3	60	3	60	0.41	NS
Congestión vascular	3	60	4	80	5	100	0.03	NS
Osteoblastos	4	60	2	40	0	-	9.4	0.005
Osteoclastos	0	-	0	-	0	-	0	NS
Osteocitos	0	-	2	40	3	60	3.81	NS
Fibrosis	1	20	1	20	3	60	4.2	NS
Reacción a cuerpo extraño	0	-	0	-	0	-	3.3	NS



**Figura 10.** Tres imágenes cotonosas que corresponden a trabéculas óseas en diferente etapa de maduración con abundantes osteoblastos.



**Figura 11.** Tejido óseo inmaduro en cantidad abundante.

Unidad A-B. La comparación de los datos histológicos entre las dos unidades osteogénicas en cada grupo de animales, mostró diferencias significativas (Cuadros 3 a 6).

La correlación de las variables histológicas entre sí, mostró una asociación significativa ( $p = 0.02$ ) entre los datos de congestión vascular y la presencia de fibrosis. Figura 12

También hubo una correlación significativa entre los datos de inflamación y neoformación vascular ( $p = 0.03$ ) y de formación de tejido osteoide con la formación de trabéculas inmaduras ( $p = 0.006$ ), como se ilustra en las Figuras 13 y 14.

En el grupo I únicamente se demostró la presencia de datos de inflamación desde el punto de vista histopatológico.

## DISCUSION

### Injertos óseos y sustitutos

Los injertos óseos son necesarios para dar soporte, rellenar y favorecer la reparación biológica de los defectos esqueléticos. Aunque el hueso autólogo constituye el material idóneo, su uso tiene importantes limitaciones como son morbilidad del sitio donador, insuficiente cantidad y dificultad para moldear en ciertos defectos. Dichas limi-

**Cuadro 3.** Comparación intragrupo de las variables histopatológicas para ambas unidades osteogénicas

Variables	Grupo I A		Grupo I B		Mann-Whitney	
	No.	%	No.	%	Valor	p
Unidad A-B						
Edema	1	20	1	20	12.5	NS
Hemorragia	0	-	0	-	-	-
Inflamación	0	-	0	-	-	-
Osteoide	0	-	0	-	-	-
Trabéculas Inmaduras	0	-	0	-	-	-
Trab. Maduras	0	-	0	-	-	-
Neoformación Vascular	0	-	0	-	-	-
Congestión Vascular	2	40	1	20	11.4	NS
Osteoblastos	0	-	0	-	-	-
Osteoclastos	0	-	0	-	-	-
Osteocitos	1	20	1	20	12.5	NS
Fibrosis	0	-	0	-	-	-
Reacción a cuerpo extraño	0	-	0	-	-	-

**Cuadro 4.** Comparación intragrupo de las variables histopatológicas para ambas unidades osteogénicas

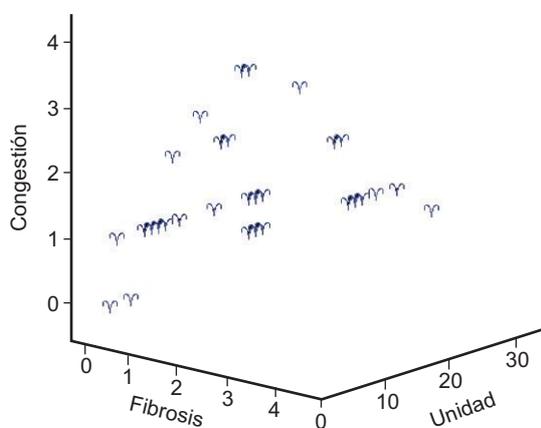
Variables	Grupo II A		Grupo II B		Mann-Whitney	
	No.	%	No.	%	Valor	p
Unidad A-B						
Edema	4	80	5	100	12.5	NS
Hemorragia	0	-	0	-	-	-
Inflamación	3	60	4	80	4.5	NS
Osteoide	4	80	4	80	8.0	NS
Trabéculas Inmaduras	4	80	4	80	4.9	NS
Trab. Maduras	3	60	3	60	10.5	NS
Neoformación Vascular	4	80	3	60	12.0	NS
Congestión Vascular	3	60	3	60	9.5	NS
Osteoblastos	4	80	4	60	8.0	NS
Osteoclastos	0	-	0	-	-	-
Osteocitos	0	-	0	-	-	-
Fibrosis	2	40	1	20	9.5	NS
Reacción a cuerpo extraño	2	40	0	-	10.0	NS

**Cuadro 5.** Comparación intragrupo de las variables histopatológicas para ambas unidades osteogénicas

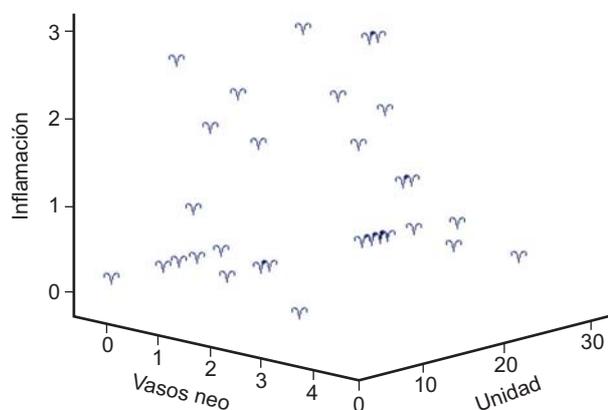
Variables	Grupo III A		Grupo III B		Mann-Whitney	
	No.	%	No.	%	Valor	p
Unidad A-B						
Edema	5	100	5	100	10.0	NS
Hemorragia	0	-	0	-	-	-
Inflamación	2	40	3	60	12.0	NS
Osteoide	4	80	3	60	8.5	NS
Trabéculas Inmaduras	4	80	4	80	12.5	NS
Trab. Maduras	3	60	3	60	10.0	NS
Neoformación Vascular	3	60	3	60	8.0	NS
Congestión Vascular	5	100	4	80	10.0	NS
Osteoblastos	1	20	2	40	12.5	NS
Osteoclastos	0	-	0	-	-	-
Osteocitos	2	40	2	40	12.0	NS
Fibrosis	1	20	1	20	10.0	NS
Reacción a cuerpo extraño	0	-	0	-	-	-

**Cuadro 6.** Comparación intragrupo de las variables histopatológicas para ambas unidades osteogénicas

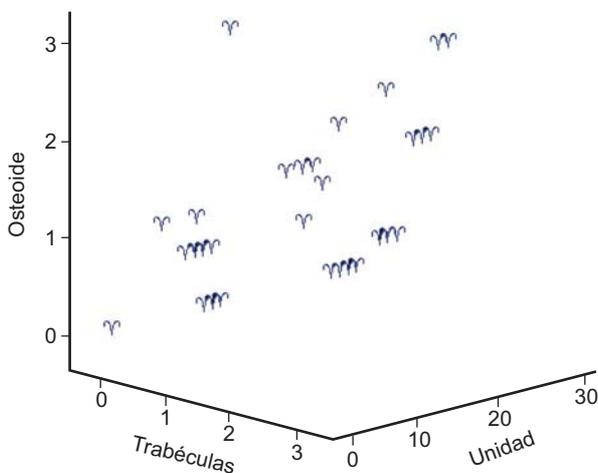
Variables	Grupo IV A		Grupo IV B		Mann-Whitney	
	No.	%	No.	%	Valor	p
Unidad A-B						
Edema	4	80	4	80	12.5	NS
Hemorragia	1	20	0	-	12.5	NS
Inflamación	1	20	2	40	10.0	NS
Osteoide	2	40	2	40	9.5	NS
Trabéculas Inmaduras	0	-	1	20	12.5	NS
Trab. Maduras	4	80	4	80	6.5	NS
Neoformación Vascular	3	60	3	60	8.0	NS
Congestión Vascular	5	100	5	100	10.0	NS
Osteoblastos	0	-	0	-	-	-
Osteoclastos	0	-	0	-	-	-
Osteocitos	3	60	3	60	8.0	NS
Fibrosis	4	80	3	60	11	NS
Reacción a cuerpo extraño	0	-	0	-	-	-



**Figura 12.** Correlación positiva entre la congestión vascular y la intensidad de la fibrosis.



**Figura 13.** Correlación positiva entre los datos de inflamación y la neoformación vascular.



**Figura 14.** Correlación positiva entre la cantidad de tejido osteoide y la cantidad de trabéculas

taciones, originaron el interés por el desarrollo de injertos óseos alternos o aloinjertos, que pueden ser de hueso cortical, esponjoso o una combinación de ambos. Si bien son sustitutos valiosos, su uso también tiene problemas tales como el riesgo de transmisión de enfermedades, inmunológicos con pérdida de sus propiedades biológicas y mecánicas, así como disponibilidad limitada por razón de costo o por motivos religiosos. En consecuencia, se realizan grandes esfuerzos para desarrollar materiales sustitutos idóneos <sup>1</sup>.

Los injertos óseos y sus sustitutos se pueden clasificar de acuerdo a sus propiedades de osteoconducción, osteoinducción y osteogénesis.

#### **Materiales osteoconductivos**

La osteoconducción es un proceso tridimensional que ocurre cuando se implantan materiales porosos en el hueso o en un sitio adyacente al mismo. La porosidad del material por sí sola, no es suficiente para favorecer el crecimiento del hueso. El prerequisite esencial es que exista porosidad con interconectividad, es decir, que los poros del material se encuentren conectados entre sí, lo que ocurre se basa en las interconexiones que hay entre las lagunas óseas, que proporcionan la comunicación intercelular. Diversas investigaciones señalan que el tamaño necesario de los poros para que se favorezca el crecimiento óseo en los implantes, oscila entre 100 a 500  $\mu\text{m}$ ; las interconexiones ideales deben ser mayores de 100  $\mu\text{m}$  <sup>4-7</sup>.

#### **Colágena**

La colágena tipo I es la proteína más abundante de la matriz extracelular del hueso. Además de poseer una estructura conductiva, promueve el depósito de mineral principalmente fósforo y calcio y se une a proteínas no colágenas de la matriz. Por sí sola, no es un material utilizable como injerto óseo; sin embargo, cuando se une con proteínas óseas morfogenéticas o con hidroxiapatita, promueve significativamente la incorporación de los injertos. Uno de los compuestos más utilizados es la colágena fibrilar altamente purificada (Collagraft) que se obtiene de la dermis bovina. A este material se le puede adicionar aspirado de médula ósea para darle capacidad osteogénica y osteoinductiva <sup>8</sup>.

#### **Agentes osteoinductivos**

Los agentes osteoinductivos son injertos óseos, generalmente proteínas que inducen la diferenciación o proliferación de células madre.

Se han identificado diversos agentes osteoinductivos, entre los que se encuentran el factor transformador de crecimiento (TGF), las proteínas óseas morfogenéticas (BMP's), el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF's), los factores de crecimiento similares a la Insulina (IGF's) y los factores de crecimiento derivados de plaquetas (PDGF's) <sup>9-12</sup>.

#### **Matriz ósea desmineralizada (DBM)**

A partir de los estudios de Urist, quedó establecida la capacidad osteoinductiva de la DBM que se produce mediante la extracción ácida de hueso cortical humano; los componentes que se obtienen de dicho tratamiento son proteínas no colágenas, factores de crecimiento osteoinductivos (la principal de las proteínas óseas morfogenéticas) y colágena tipo I.

#### **Agentes osteogénicos**

Son agentes capaces de generar hueso al diferenciarse en una línea celular osteogénica a partir de una célula pluripotencial.

#### **Proteínas óseas morfogenéticas**

Las proteínas óseas morfogenéticas son glicoproteínas no colágenas de bajo peso molecular. La DBM es una mezcla de proteínas óseas morfogenéticas y proteínas no inductivas inmunogénicas. La forma purificada de las

proteínas óseas morfogénicas es no inmunogénica y no una especie específica<sup>13</sup>.

#### Aspirado de médula ósea

Su principal ventaja es que puede obtenerse por vía percutánea y casi con nula morbilidad para el paciente. Aproximadamente una de cada 100, 000 células del aspirado corresponde a una célula madre<sup>14-17</sup>, que tiene la posibilidad de diferenciarse en osteoblastos y osteocitos si se coloca en un ambiente favorable para diferenciarse hacia esa línea celular.

El déficit de hueso en determinadas zonas del esqueleto, supone un mayor problema, que en otras zonas. Así, la pérdida de gran cantidad de tejido óseo en cráneo (o incluso en cualquier hueso) es problema que aumenta debido al creciente número de accidentes en nuestro país y en el mundo.

Los elementos esenciales para la reparación de estas lesiones son en primer lugar los osteoblastos y factores osteogénicos; en segundo lugar, un andamiaje en tres dimensiones; se requiere asimismo que haya las características de osteoinducción y osteoconducción descritas y un nuevo suplemento sanguíneo, que probablemente sea el factor limitante en estas lesiones.

En este trabajo estudiamos las características de una unidad osteogénica, mediante la creación de un defecto de tamaño “crítico” (defecto óseo mayor al 10% de la superficie total del hueso y que no puede regenerarse espontáneamente, ni siquiera cubrirse con tejido fibroso por su dimensión) en el cráneo de conejos. Con dicho defecto crítico se generó una lesión de tal magnitud que el organismo es incapaz de cubrir mediante la regeneración natural del hueso. Por estas razones, los procesos de reparación en nuestro estudio tuvieron lugar por la influencia de la unidad osteogénica. La naturaleza de los materiales utilizados, permitieron con buen éxito la reparación siguiendo las premisas descritas. Se utilizaron un factor osteogénico con las células de la médula ósea, un factor osteoinductor con los factores de crecimiento de la matriz ósea desmineralizada; como andamiaje o material osteoconductor se empleó la dermis humana acelular. Se logró la formación de hueso normal. Esta experiencia abre el camino a nuevas investigaciones que permitan generar hueso en cualquier defecto causado por cualquier patología o por una enfermedad congénita.

## CONCLUSIONES

En el grupo control, el haber producido un defecto de tamaño “crítico” en el cráneo del conejo (100 mm<sup>2</sup>) no dio lugar a la generación espontánea de hueso ni cicatrización y no logró cerrarse.

El modelo experimental osteogénico implantado reunió los tres factores de reconstrucción biológica:

Osteoinducción	Neovasclarización
Osteoconducción	Trabéculas Óseas
Osteogénesis	Osteocitos maduros

La unidad osteogénica implantada en el presente estudio llena su función reparadora.

En las dos variantes, en las que se utilizó hueso desmineralizado como agente osteoconductor, no se encontró diferencia significativa en el hueso generado.

La imagenología apoya lo que se demostró histopatológicamente: la reparación de los defectos craneales con neoformación ósea generada por las unidades osteogénicas A y B (Figuras 15 y 16).

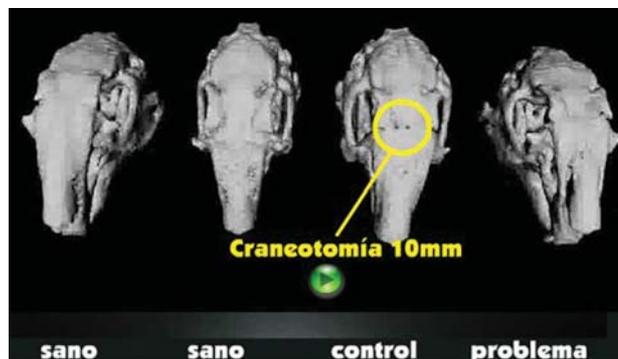


Figura 15. Estereolitografía en blanco y negro de craneotomía bilateral de 100 mm<sup>2</sup> de área en el cráneo control.

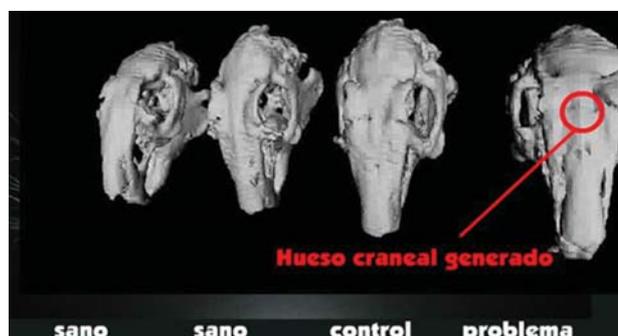


Figura 16. Estereolitografía en blanco y negro con hueso generado en el cráneo problema.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Parikh, SN. Bone graft substitutes: past, present, future. *J Postgrad Med* 2002;48:142-8.
2. White E, Shors EC. Biomaterial aspects of interpore-200 porous hydroxyapatite. *Dent Clin North Am* 1986;30:49-67.
3. Dressmann H. Ueber knochenplombierung bei hohlenförmigen defekten des knochens. *Beitr Klin Chir* 1892;9:804-10.
4. Chiroff, RT, White, EW, Weber, KN, Roy, DM. Tissue ingrowth of replamineform implants. *J Bio Med Mater Res* 1975;6:29-45.
5. Tisdell CL, Goldberg VM, Parr JA, Bensusan JS, Staikoff LS, Stevenson S. The influence of a hydroxyapatite and tricalcium phosphatae coating on bone growth into titanium fiber-metal implants. *J Bone Joint Surg Am* 1994;76:159-71.
6. Ferraro JW. Experimental evaluation of ceramic calcium phosphate as a substitute for bone grafts. *Plast Reconstr Surg* 1979;63:634-40.
7. Robinson D, Alk D, Sandbank J, Farber R, Halperin N. Inflammatory reactions associated with a calcium sulphate bone substitute. *Ann Transplant* 1999;4:91-7.
8. Cornell CN, Lane JM, Chapman M, Merkow R, Seligson D, Henry S et al. Multicenter trial of collagraft as bone graft substitute. *J Orthop Trauma* 1991;5:1-8.
9. Cohen SR, Holmes RE, Meltzer HS. Craniofacial reconstructions with a fast resorbing polymer: a 6 to 12 - month clinical follow-up review. *Neurosurg Focus* 2004;16:1-6.
10. Joyce ME, Jingushi S, Bolander ME. Transforming growth factor? In the regulation of fracture repair. *Othop Clin North Am* 2003;3:199-209.
11. Urist MR. Bone: formation by autoinduction. *Science* 1965;150:893-8.
12. Onishi T, Ishidou Y, Nagamine T, Yone K, Imamaru T, Kato M and et al. Distinct and overlapping patterns of localization of bone morpho-genetic protein (BMP) family members and a BMP type II receptor during fracture healing in rats. *Bone* 1998;22:605-12.
13. Sakou T. Bone morphogenetic proteins from basic studies to clinical approaches. *Bone* 1998;22:591-603.
14. Connolly JF. Injectable bone marrow preparations to stimulate osteogenic repair. *Clin Orthop* 1995;313:8-18.
15. Lee C, Antonyshyn OM, Forrest CR. Cranioplasty indications, technique and early results of autogenous split skull cranial vault reconstruction. *J Craniomaxillofac Surg* 1995;23:133-41.
16. Manson PN. Facial bone healing and bone grafts: A review of clinical physiology. *Clin Plast Surg* 1994;21:331-8.
17. Ozaki W, Buchman SR, Goldstein SA. Future of cortical membranous and cortical endochondral onlay bone grafts in the craniofacial skeleton. *Plast Reconstr Surg* 1999;104:139-45.
18. Kusiak JF, Zins JE, Whitaker LA. Revascularization of membranous bone. *Plast Surg* 1985;76:510-7.
19. Chen NT, Glowacki JE, Whitaker LA. Revascularization of membranous bone. *Plast Surg* 1986;80:213-8.
20. Chen NT, Glowacki J, Bucky LP, Hong WK, Yaremchuk MJ. The role of craniofacial onlay bone grafts in the infant rabbit. *Plast Constr Surg* 1994;93:714-20.
21. Zellin G, Alberius P, Linde A. Related bone repositioning in the growing rabbit calvarium hampers bone segment incorporation. *Plast Reconstr Surg* 1997;100:619-23.
22. Greenwald JA, Mehrara BJ, Spector JA et al. Biomolecular mechanisms of calvarial bone induction: Immature versus mature dura mater. *Plast Reconstr Surg* 2000;103:105-11.
23. Gosain AK, Song L, Yu P et al. Osteogenesis in cranial defects: Reassessment of the concept of critical size and the expression of TGF-beta isoforms. *Plast Reconstr Surg* 2000;106:360-6.
24. Wilkes GH, Kernahan DA, Christenson MD. Comparative study in mature and immature animals. *Ann Plast Surg* 1985;15:374-8.
25. Greenwald JA, Mehrara BJ, Spector JA et al. Immature versus mature dura mater: II Differential expression of genes important to calvarial reossification. *Plast Reconstr Surg* 2000;106:630-9.
26. Roy DM, Linnehan SK. Hydroxyapatite formed from coral skeletal carbonate by hydrothermal exchange. *Nature* 1974;247:22-4.
27. Holmes RE, Hagler HK. Porous hydroxyapatite as bone graft substitute in cranial reconstruction: A histometric study. *Plast Reconstr Surg* 1988;81:662-9.
28. Trippel SB. Potential role of insulinlike growth factors in fracture healing. *Clin Orthop* 1998;335:301-13.
29. Manson PN, Crawley WA, Hoopes JE. Frontal cranioplasty: risk factors and choice of cranial vault reconstructive material. *Plast Reconstr Surg* 1986;77:888-900.
30. Hobar PC, Schreiber IS, McCarthy JC, Thomas PA. The role of the dura in cranial regeneration in the immature animal. *Plast Surg* 1993;92:405-10.
31. Coulwell WT, Chen TC, Weiss MH. Cranioplasty with the medpor polyethylene flexblock implant. Technical note. *J Neurosurg* 1994;81:483-6.
32. Gasain AK. The current status of tissue glues: I. for bone fixation. *Plast Reconstr Surg* 2002;109:258-83.
33. Blake GB, MacFarlane MR, Hamton JW. Titanium in reconstructive surgery of the skull and face. *Br J Plast Surg* 1990;43:528-35.
34. Tuli SM, Slingh AD. The osteoinductive property of decalcified bone matrix: An experimental study. *J Bone Joint Surg Br* 1978;60:116-23.
35. Nakamichi Y, Shukumani CH, Yanada T. Chondromodulin I is a bone remodeling factor. *Mol Cell Biol* 2003;23:636-44.
36. Gendler E. Perforated demineralized bone matrix: a new form of osteoinductive material. *J Biomed Mater Res* 1986;20:687-697.
37. Livesey SA, Herndon DN, Hollyoak MA, Atkinson YH, Nag A. Transplanted acellular allograft dermal matrix: Potential as a template for the reconstruction of viable dermis. *Transplantation* 1995;60:1-15.
38. Eppley B. Experimental assessment of the revascularization of acellular human dermis for soft-tissue augmentation. *Plast Reconstr Surg* 2001;107:757-62.
39. Scaduto AA, Lieberman JR. Gene therapy for osteoinduction. *Orthop Clin North Am* 1999;30:625-33.
40. Ito A, Mase A, Takizawa Y. Transglutaminase-mediated gelatin matrices incorporating cell adhesion factors as a biomaterial for tissue engineering. *J Biosci Bioeng* 2003;95:196-9.
41. Álvarez-Cáseres R. Estadística multivariante y no paramétrica con SPSS. Díaz de Santos. Madrid: Editorial Norma; 1995. p. 306-40.